

Черепно-мозговая травма: патогенез, экспериментальные модели, перспективы клеточной терапии



Чайка А. В.¹, Забенько Е. Ю.¹, Лабунец И. Ф.², Пивнева Т. А.^{1,2}

¹Институт физиологии им. А. А. Богомольца Национальной академии наук Украины, Киев, Украина

²ГУ «Институт генетической и регенеративной медицины Национальной академии медицинских наук Украины», Киев, Украина

e-mail: pta@biph.kiev.ua

РЕЗЮМЕ

Черепно-мозговая травма (ЧМТ) – это повреждение головного мозга под действием внешней механической силы, например, сильный удар в результате автомобильной аварии, удар взрывной волны, биомеханическое повреждение мозга в результате столкновения при контактных видах спорта и др. Эта сложная травма с широким спектром симптомов является одной из основных причин смерти и инвалидности в современном обществе во всем мире. Результаты многочисленных подходов лечения последствий травм показали многообещающие перспективы на животных моделях черепно-мозговых травм, но не продемонстрировали своей какой-либо значительной эффективности в клинических испытаниях. В настоящем обзоре мы рассмотрим существующие актуальные аспекты ЧМТ: современная классификация; общие принципы развития патологического процесса, модели черепно-мозговой травмы на животных, терапия с использованием стволовых клеток различного генеза.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: черепно-мозговая травма; модели черепно-мозговой травмы на животных; стволовые клетки

Черепно-мозговая травма (ЧМТ) – это повреждение мягких тканей головы, черепа и/или головного мозга; клиническое состояние пациента после травмы проявляется дисфункцией головного мозга [1, 2]. По факту, травма рассматривается как ЧМТ, когда иницирующая сила влияет на функционирование мозга, сопровождаясь одним или несколькими клиническими признаками, включая потерю или измененный уровень сознания, амнезию, с неврологическим дефицитом или без него.

Проблема диагностики и эффективного лечения ЧМТ является одной из важнейших в современной медицинской науке. Любой житель земли подвергается риску ЧМТ независимо от его возраста, места жительства и общественного положения. В последние десятилетия наблюдают пандемическое распространение ЧМТ в связи с повышением темпа жизни, увеличением количества скоростных транспортных средств, индустриализацией, а также такими явлениями, как терроризм, локальные военные конфликты. В мире ежегодно погибают вследствие ЧМТ около 5 млн человек [3]. Статистические показатели указывают на то, что частота черепно-мозговой травмы в настоящее время выше, чем у любых других заболеваний, включая такие заболевания, как рак молочной железы, СПИД, болезнь Паркинсона и рассеянный склероз. [4]. Например, в США ЧМТ происходит каждые 15 секунд и общее количество пострадавших достигает 1,7 миллиона в год. Из них 50 тыс. случаев с летальным исходом, а у 80 тыс. человек ЧМТ приводит к различной степени инвалидности [5].

В Украине ежегодно получают ЧМТ около 100 тыс. человек (2 на 1 тыс. жителей) [6]. В России ежегодно регистрируют около 600 тыс. ЧМТ (4 на 1 тыс. жителей) [7]. Несмотря на значительные инвестиции в решение этой проблемы, ЧМТ по-прежнему остается одним из основных нарушений функций головного мозга, в лечении которых отсутствует эффективная фармакотерапия и стандартизованные варианты лечения [8]. Для того чтобы разработать и применить адекватную терапию, необходимо понять сложную патофизиологию ЧМТ и изучить молекулярные механизмы, происходящие при таком повреждении мозга.

КЛАССИФИКАЦИЯ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЫ

В клинической практике классификация ЧМТ основана на количестве баллов по шкале комы Глазго (GCS): легкая (13-15 баллов), умеренная (9-12 баллов) или тяжелая (3-8 баллов). Недавно ЧМТ была классифицирована по длительности потери сознания, изменению сознания и посттравматической амнезии [2, 9]. К легкой ЧМТ относят сотрясение и ушиб мозга легкой степени, к среднетяжелой – ушиб мозга средней степени, подострое и хроническое сдавление мозга, к тяжелой – ушиб мозга тяжелой степени, диффузное аксональное повреждение и острое сдавление мозга. Естественно, в данном контексте рассматривается лишь общий спектр оценки тяжести ЧМТ. На практике эта задача решается индивидуально с учетом возраста пострадавшего, его преморбида, наличия различных

слагаемых травмы (когда, например, обширность повреждений скальпа и/или костей черепа даже при ушибе мозга легкой или средней степени заставляет квалифицировать ЧМТ как тяжелую) и других факторов.

ОБЩИЕ ПРИНЦИПЫ РАЗВИТИЯ ПАТОЛОГИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА ПРИ ЧМТ

Важно отметить, что ЧМТ это не просто одновременное событие, а процесс, который включает многоуровневые каскады первичного и вторичного повреждения головного мозга, с ближайшими и отсроченными последствиями. Понимание этого изменило подход к разработке новых методов лечения или усовершенствования существующих стратегий лечения [10]. Первичные повреждения обусловлены воздействием травмирующей силы на кости черепа, оболочки и ткань мозга, мозговые сосуды и ликворную систему. К первичным повреждениям относят и очаги ушибов головного мозга, первичные ушибы ствола мозга, диффузные аксональные повреждения и сосудистые повреждения мозга [11]. При первичном повреждении мозга происходит механическое нарушение целостности структуры нейронов и клеток нейроглии, разрушение синаптических терминалей, нарушение целостности или тромбозы сосудов. Комплексные каскады метаболических, клеточных и молекулярных событий при первичной травме все вместе составляют вторичную травму. Они могут развиваться от часов до месяцев после первичной травмы [12,13].

На самом деле, что касается времени после травмы, вторичные повреждения подразделяют на три перекрывающиеся фазы: ранние, промежуточные и поздние [14]. Ранняя фаза, обычно через 24 часа после травмы, обусловлена прерыванием нормального местного кровотока, что приводит к ишемическому каскаду, который начинается с накопления молочной кислоты, из-за чего происходит метаболический переход от обычного аэробного процесса к анаэробному гликолизу [15]. Вследствие первичной травмы уменьшается доступ аденозинтрифосфата и нарушается проницаемость клеточной мембраны (мембранной помпы) [11]. Это приводит к деполяризации мембраны нейронов и высвобождению возбуждающих нейромедиаторов (глутамата и аспартата). Связываясь с глутаматными рецепторами, нейромедиаторы не только вызывают мощный приток ионов кальция внутрь клетки, но и их освобождение из внутриклеточных депо [16]. Активированные кальцием фосфолипазы, протеазы и эндонуклеазы разрушают липиды, углеводы, белки и нуклеиновые кислоты, что приводит к нарушению целостности наружной мембраны клетки и мембраны митохондрий, прерыванию процессов окислительного фосфорилирования, синтеза белков и формированию свободных радикалов [17]. Более того, повышение концентрации внутриклеточного Ca^{2+} активирует каспазы и кальпаины, которые запускают некроз или апоптоз клеток, что приводит к их гибели и накоплению клеточного дебриса [18].

Не менее значительными факторами повреждения после ЧМТ являются: активация иммунного воспаления, дефицит нейротрофических факторов. В промежуточной фазе повреждения целостность гематоэнцефалического барьера нарушена, как следствие, индуцируются множество иммунологических и воспалительных процессов [14, 19]. Об этом свидетельствует активация резидентных иммунных клеток, которые выделяют ряд клеточных медиаторов, такие как IL-1 β , IL-6 и TNF α , связанные с образованием противовоспалительных цитокинов, главным образом IL-10 и TGF β , наряду с простагландинами, свободными радикалами, хемокинами и факторами системы комплемента [14, 20]. Мощным стимулом, запускающим развитие иммунного воспаления, является присутствие клеточного дебриса в кровеносном русле в результате разрушения гематоэнцефалического барьера при первичном повреждении. В эндотелии капилляров и на поверхности активированных лейкоцитов, а именно гранулоцитов, макрофагов, моноцитов и лимфоцитов, экспрессируются молекулы главного комплекса гистосовместимости, многочисленные цитокины и хемокины.

Наиболее значимыми для развития воспаления являются фактор некроза опухоли и интерлейкины [21]. В действительности, воспаление играет двойную роль в мозге: благотворную – запускаются процессы регенерации; и отрицательную – усиливается дальнейшее повреждение. В последнем случае передача сигналов TNF α через рецептор TNFR1 положительно связана с повышением регуляции белка аквапорина AQP4, который принадлежит к семейству мембранных водных каналов. Этот белок усиливает образование отеков, способствуя повышению внутричерепного давления в тканях мозга и цереброспинальной жидкости, что приводит к дальнейшей дегенерации нейронов. Кроме того, AQP4 способствует увеличению количества микрофиламентов в астроцитах, индуцируя образование рубцовой ткани. Образование глиального рубца, с одной стороны, ограничивает участок дальнейшего поражения нейронов, а с другой – препятствуют прорастанию отростков нейронов [11, 14].

Важная роль в воспалительном ответе при повреждении мозга отводится клеткам глии [22]. ЧМТ сопровождается активацией глиальных клеток, переходящей в хронический астро- и микроглиоз [23]. Активирование глиальных клеток характеризуется пролиферацией астроцитов и микроглии, изменением их структуры (гипертрофия сомы клеток и их отростков, появление многочисленных вакуолей и лизосом). Активация астроцитов сопровождается увеличением экспрессии глиального кислого фибриллярного белка – GFAP, который в клинических исследованиях рассматривается как потенциальный маркер ЧМТ. Микроглиальные клетки являются резидентными макрофагами в центральной нервной системе и могут взаимодействовать с макроглиальными клетками, нейронами и с клетками иммунной системы, используя многочисленные сигнальные пути. Микроглиальные клетки экспрессируют рецепторы, классически описанные для связи с нейронами, такие как рецепторы нейротрансмиттеров, и те, которые впервые обнаружены как специфичные для медиаторов иммунных клеток, таких как цитокины и хемокины. Микроглиальные клетки считаются наиболее восприимчивыми датчиками патологии мозга. Активированные микроглиальные клетки, подобно лейкоцитам и астроцитам, могут мигрировать в место повреждения, пролиферировать и фагоцитировать клеточный дебрис [24, 25].

Наряду с процессами вторичного повреждения тканей мозга при ЧМТ запускаются процессы нейрорегенерации и нейропротекции. В частности, астроциты и микроглия экспрессируют фактор роста, выделенный из головного мозга (BDNF) и другие нейропротективные факторы, а именно, фактор роста нервов (NGF), нейротрофин-3; вырабатывают противовоспалительные цитокины и хемокины (CD206, CD163, FcyR, аргиназа 1, TGF β) [26, 27].

Что касается поздней стадии, наиболее заметной особенностью является появление, а затем и увеличение количества внезапных одиночных судорог, а в более тяжелых случаях – развитие эпилепсии, которая коррелирует с характером и тяжестью травмы [28]. Известно, что эксайтотоксичность является способствующим фактором в развитии эпилептических приступов часто сопровождающиеся судорогами, ЧМТ-индуцированное уменьшение экспрессии белка калиевого канала Kv.4.2 делает нейроны более возбудимыми и, следовательно, это приводит к увеличению судорог. Более того, показано, что ЧМТ способствует судорожной активности за счет снижения тормозного тока [14].

Многообразие патофизиологических процессов, которые развиваются с течением времени, приводят к необратимым повреждениям и гибели клеток и, как следствие, функциональным нарушениям мозга. Кроме всего прочего, патологичные процессы, приводящие к развитию повреждений после ЧМТ, а также те, которые способствуют восстановлению, чрезвычайно сложны и часто накладываются друг на друга. В зависимости от типа повреждения, патофизиологические механизмы могут быть различными и даже изменяться во времени, и поэтому очень важно, чтобы нейропротекторная терапия разрабатывалась и реализовалась с учетом этих переменных.

Несмотря на то что в последние десятилетия результаты исследований ЧМТ приблизили наше понимание развития и лечения последствий травм, динамика нейродегенеративных процессов остается до сих пор малоизученной, что делает необходимым использования в эксперименте животных моделей.

МОДЕЛИ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЫ НА ЖИВОТНЫХ

Ввиду гетерогенного происхождения ЧМТ появилась необходимость в разработке различных моделей ЧМТ на животных. В основном используют лабораторных мышей и крыс из-за их доступной стоимости и, главное, короткой длительности жизни, что дает возможность проследить отдаленные последствия травм. Наиболее используемыми из них считаются четыре: модель ЧМТ, вызванная перкуссией жидкости (fluid percussion injury – FPI); модель ЧМТ, вызванная ударной волной (blast injury); модель ЧМТ, вызванная нанесением удара свободно падающим грузом (weight-drop injury), модель ЧМТ, нанесенная с помощью контролируемого кортикального воздействия/удара (controlled cortical impact). Наряду с вышеперечисленными моделями ЧМТ используют другие модели, которые являются их модификацией [12].

Модель жидкостно-перкуSSIONной травмы мозга (fluid-percussion brain injury). После разреза скальпа и выполнения краниотомии травму наносят болюсом жидкости из трубки, прикрепленной к обнаженному участку твердой оболочки головного мозга, быстрым толчком с помощью удара по поршню. Удар вызывает кратковременное смещение и деформацию ткани головного мозга, а тяжесть травмы зависит от силы импульса давления. В этой модели повреждения мозга воспроизводят клиническую ЧМТ без повреждения черепа, но средние и тяжелые ЧМТ у людей часто ассоциируются с переломом черепа и ушибами нескольких извилин, которые не могут быть воспроизведены в этой модели. Однако данная модель может приводить к внутричерепному кровоизлиянию, отеку мозга и прогрессирующему повреждению серого вещества [29].

Модель травмы, вызванной ударной волной (blast injury). Устройство для моделирования ЧМТ, вызванной действием взрывной волны, состоит из трубки большого диаметра, в которой происходит взрыв на одном ее конце, а на другом находится животное. Взрыв непосредственно не воздействует на подопытное животное из-за длины трубки, однако взрывная волна, распространяясь по ней, оказывает влияние на животное. Необходимость в моделировании ЧМТ путем взрыва возникла, когда обнаружилось, что у многих военнослужащих, которые подвергались воздействию взрывной волны и не имевших внешних повреждений, были диагностированы достаточно тяжелые ЧМТ. На данной модели ЧМТ была подтверждена эффективность кевлара в качестве материала для защитных шлемов. При этих исследованиях было показано, что кевларовые шлемы уменьшают смертность животных, однако увеличивалась степень диффузной аксональной травмы, что доказывает появление ЧМТ под воздействием взрывных волн. Незначительные повреждения под действием взрывной волны имеют следующие патофизиологические проявления: диффузный церебральный отек, сильная гиперемия и вазоспазм (эти симптомы характерны для ЧМТ как у человека, так и у животных). Также было показано на крысах, что модель ЧМТ с моделируемым взрывом вызывает значительные нейронные дисфункции, когнитивный дефицит и снижает внутричерепное давление [30].

Модель свободного падения груза (weight-drop injury). В модели свободного падения груза голова экспериментального животного подвергается удару направленным свободно падающим грузом. Тяжесть травмы регулируют с помощью массы груза и высоты, с которой его спускают [12, 31]. Разновидности этой модели в большинстве случаев предназначены для воспроизведения диффузной ЧМТ. В этой

модели также наблюдаются нарушения двигательной и когнитивной функций [32]. По распространенной схеме диффузного аксонального повреждения, которую разработал Margaroni и др. (impact acceleration model) [33], удар наносят в вертектальной области черепа, где предварительно разрезается кожа по срединной линии. К месту удара прикрепляют защитный металлический диск, чтобы избежать переломов черепа. Разновидности модели могут варьировать по следующим критериям: необходима ли краниэктомия, диффузным или фокальным является повреждение, центрально или латерально наносится повреждение, зафиксировано ли животное в установке или нет и др. [12, 31].

Модель контролируемого коркового повреждения (controlled cortical injury). По сравнению с моделью свободного падения груза, контролируемое корковое повреждение в меньшей степени соответствует реальным условиям получения ЧМТ, однако является гораздо более воспроизводимым благодаря ряду параметров, которые можно регулировать, таких как глубина повреждения, длительность и скорость [12]. Принцип устройства состоит в пневматическом или электромагнитном воздействии на ограниченный участок твердой оболочки головного мозга [34, 35], что приводит к разрушению ткани коры головного мозга, повреждению аксонов, сотрясению, дисфункции гематоэнцефалического барьера и даже к коме. Контролируемое корковое повреждение во всех случаях предусматривает обнажение твердой оболочки. Локальность нанесения контролируемого коркового повреждения тканей головного мозга больше всего подходит для воспроизведения фокальной травмы.

МЕТОДЫ ЛЕЧЕНИЯ ЧМТ, ПРИМЕНЯЕМЫЕ В НАСТОЯЩЕЕ ВРЕМЯ

Современные методы лечения ЧМТ были разработаны для каждого патологического этапа развития вторичных повреждений. Медикаментозное лечение обычно сводится к препаратам, улучшающим обмен веществ в мозговой ткани (пираретам, пикамилон), и сосудистым препаратам (винпроцетин, циннаризин). К сожалению, очень часто положительные эффекты лечения ЧМТ у животных не подтвердили ожидаемых результатов на пациентах с ЧМТ. В частности, ранние клинические исследования на пациентах с ЧМТ подтвердили умеренную эффективность нимодипина – блокатора кальциевых каналов. В то же время на модели ЧМТ у грызунов были предоставлены убедительные доказательства для использования нимодипина в качестве потенциального терапевтического средства [36, 37]. Аналогичные результаты были получены с использованием препарата тирилазада – ингибитора перекисного окисления липидов, часто используемого для лечения отека мозга. В лабораторных исследованиях на животных моделях ЧМТ при использовании этого препарата было показано, что он обладает нейротропными свойствами. Однако применение тирилазада в клинике для пациентов с умеренными и тяжелыми ЧМТ не привело к улучшению их неврологического состояния [38].

Лабораторные исследования по использованию стероидов для лечения последствий ЧМТ, в частности, глюкокортикоидов, показали, что они уменьшают количество свободных радикалов и оказывают нейрорегенеративный эффект. Однако использование дексаметазона при лечении тяжелой травмы головы демонстрировало неплохие результаты по некоторым показателям у выживших пациентов, но при этом увеличилось число пациентов с «вегетативным» статусом, у которых улучшение благоприятного исхода лечения не наблюдалось [39]. Применение препарата селфотела – антагониста NMDA-рецептора и ингибитора возбуждающих аминокислот – в клинических испытаниях показало развитие психоактивных поведенческих эффектов у пациентов с ЧМТ, что послужило основанием для прекращения клинических испытаний. [40]. Здесь приведены лишь несколько примеров лечения пациентов с ЧМТ теми препаратами, которые показали потенциальный терапевтический эффект у животных на моделях ЧМТ.

Учитывая глобальные последствия ЧМТ для населения, крайне важно, чтобы исследования и разработки новых методов лечения пациентов по-прежнему активно развивались в этой области.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ПРИ ЛЕЧЕНИИ ПОСЛЕДСТВИЙ ЧМТ

В последнее время появилась возможность использования стволовых клеток (СК) в качестве потенциальной терапии ЧМТ, основываясь на их нейропротекторных и нейрорегенеративных свойствах [41]. Многочисленные исследования на животных моделях ЧМТ проводятся с использованием стволовых клеток различного генеза, а именно: эндогенных нейральных стволовых клеток, эмбриональных и фетальных СК, индуцированных плюрипотентных СК и мезенхимальных СК.

Активация эндогенного нейрогенеза при ЧМТ. Известно, что в двух отделах центральной нервной системы взрослого организма происходит процесс нейрогенеза – субвентрикулярная зона [42], окружающая боковой желудочек, и зубчатая извилина гиппокампа [43]. Стволовые клетки в этих зонах обладают свойствами самообновления и способны дифференцироваться в нейроны и глиальные клетки [44, 45].

Было показано, что эндогенные НСК субвентрикулярной зоны влияют на микроокружение и способствуют выживанию нейронов и глии после ЧМТ. Исследования проводили на трансгенных мышах, экспрессирующих ген тимидин киназы вируса простого герпеса под контролем промотора нестин, увеличение экспрессии которого наблюдало на модели контролируемого кортикального повреждения [46]. У таких мышей удаляли эндогенные СК субвентрикулярной зоны. Две недели после ЧМТ у мышей с дефицитом эндогенных СК регистрировали снижение уровня выживаемости нейронов и уменьшение количества глиальных клеток в коре, однако отмечали гипертрофию сомы клеток глии в месте повреждения. Результаты показали, что эндогенные НСК играют важную роль в поддержании микроокружения в коре и тем самым способствуют выживанию нейронов и глиальных клеток после ЧМТ. На основании полученных результатов был сделан вывод о том, что эндогенные НСК могут проявлять защитные свойства после травмы [46].

Таким образом, эндогенные стволовые клетки, находящиеся в нейрогенной нише, составляют потенциальный пул клеток, участвующих в восстановлении мозга. Важно отметить, что функциональная роль этих новых клеток в значительной мере зависит от количества вновь генерируемых клеток, их потенциала дифференциации, выживаемости и интеграции в существующие нейронные сети.

Исследования показали, что ЧМТ значительно увеличивает пролиферацию и дифференциацию резидентных стволовых клеток как в субвентрикулярной зоне, так и в зубчатой извилине у взрослых травмированных мышей и крыс [47]. Регенерированные нейроны в этих областях могут интегрироваться в нейронные сети мозга и замещать утраченные нейроны в поврежденных участках мозга. В частности, вновь образованные гранулярные клетки в зубчатой извилине гиппокампа обладают способностью зрелых нейронов этой зоны генерировать потенциалы действия и образовывать функциональные синапсы [45]. Следовательно, возможность стимулировать пролиферацию и дифференциацию эндогенных НСК является привлекательной стратегией восстановления поврежденного мозга.

В исследовании, проведенном на коре головного мозга пострадавшего человека с ЧМТ, обнаружили увеличение количества клеток, экспрессирующих маркеры СК, такие как DCX, TUC4, PSA-NCAM, SOX2, NeuroD [48]. Известно, что индуцированный эндонейрогенез способствует ускорению регенеративных процессов после ЧМТ. В частности, серотонин, глюкокортикоиды и факторы роста существенно увеличивают пролиферацию и созревание клеток в субвентрикулярной зоне и зубчатой извилине [44, 47]. Внутрижелудочковое введение основного фактора роста фибробластов (bFGF)

или эпидермального фактора роста (EGF) усиливает эндогенный нейрогенез, увеличивает ЧМТ-индуцированную пролиферацию клеток в субвентрикулярной зоне, гиппокампе и значительно улучшает восстановление когнитивных функций [49].

Регенеративные реакции на фокальное поражение головного мозга показали, что пролиферация клеток в дорсолатеральной субвентрикулярной зоне удвоилась к 48 часам в поврежденном мозге молодых животных по сравнению с отсутствующим пролиферативным ответом в мозге взрослых особей [50]. Более того, клетки-прогениторы субвентрикулярной зоны в поврежденном мозге молодых животных образовали в два раза больше нейрофер и пролиферировали намного быстрее по сравнению с животными того же возраста, у которых не пострадал мозг [50]. Тем не менее такой репаративный ответ не привел к значительной регенерации нейронов. Стимуляция эндогенного нейрогенеза посредством активации НСК является непростой задачей. Необходимо учитывать, что эндогенные стволовые клетки не могут быть одинаково стимулированы из-за мультикомпонентной окружающей среды, в которой находятся клетки [51, 52].

Другие исследования показали, что образование нейронов из эндогенных НСК после ЧМТ и их интеграция в существующую сеть занимает примерно 10-14 дней [47]. Также было показано, что некоторые лекарственные препараты и изменения в поведенческих реакциях при усложнении среды проживания могут усилить эндогенный нейрогенез [53]. Например, противодиабетический препарат метформин увеличивает эндогенный нейрогенез при моделировании ишемической травмы. Введение метформина активировало пролиферацию, миграцию и дифференциацию эндогенных НСК в поврежденном мозге новорожденных мышей. В нейросферах, сформированных НСК у таких мышей, отмечали больше олигодендроцитов и нейронов в присутствии метформина по сравнению с животными контрольной группы. Кроме того, введение метформина способствовало улучшению сенсорно-двигательных функций [54].

Многочисленные результаты исследования роли эндогенных НСК для успешного восстановления поврежденного мозга несомненно показали их позитивный потенциал. Важной задачей является создание условий для пролиферации эндогенных НСК и их дифференциации в достаточное количество зрелых нейронов и глию, способных интегрироваться в поврежденную нейронную сеть мозга.

Различные типы экзогенных стволовых клеток, используемые при ЧМТ. Мозг взрослых млекопитающих и человека обладает ограниченной способностью генерировать новые клеточные элементы, в частности, нейроны и глиальные клетки при различных типах повреждений. Поэтому трансплантация экзогенных СК является перспективной терапией для лечения последствий ЧМТ и может пополнить пул утраченных нейронов и глиальных клеток [55]. Использование экзогенных стволовых клеток в качестве потенциальной клеточной терапии различных видов ЧМТ основывается на их способности дифференцироваться и интегрироваться в нейронные сети реципиента, а также продуцировать разнообразные трофические факторы [55, 56, 57].

Эмбриональные и фетальные стволовые клетки. Стволовые клетки, полученные из взрослого организма, обладают ограниченной способностью дифференцироваться в различные типы клеток. В противоположность, эмбриональные СК (embryonic stem cells) внутренней клеточной массы бластоциты являются плюрипотентными, а фетальные СК плодов являются мультипотентными СК и способны дифференцироваться во все виды клеток центральной нервной системы [58].

Фетальные СК можно выделять у мыши из ганглиозных возвышений эмбрионов на 14-16 день беременности, а также изолировать из области активного нейрогенеза – субвентрикулярной зоны бокового желудочка [59, 60]. Из-за их высокой пластичности

такие СК являются идеальным источником клеток для трансплантации, поскольку они могут дифференцироваться в различные типы клеток нервной ткани, мигрировать и интегрироваться в различные участки мозга [61]. Они обладают также и трофическим действием. А именно, трансплантированные клетки могут секретировать в месте повреждения широкий спектр хемокинов, цитокинов, ростовые факторы, иммуносупрессивные молекулы и другие трофические факторы, которые активно влияют на микроокружение и, соответственно, на реакцию со стороны клеток-хозяев [62]. Было показано, что нейротрофические факторы GDNF и BDNF, продуцируемые глиальными и нервными клетками, могут также секретироваться эмбриональными СК [62].

Эмбриональные НСК, выделенные из плода мозга человека и мышей, использовались в качестве источника для трансплантации на разных животных моделях ЧМТ, а после трансплантации регистрировали восстановление двигательных и когнитивных функций [47]. Было показано, что трансплантированные эмбриональные НСК, полученные из 10-недельного человеческого мозга, в мозг крыс после ЧМТ (в модели свободного падения груза), выживали и дифференцировались в нейроны и астроциты после миграции в контралатеральную кору головного мозга крыс [60]. В исследованиях по трансплантации дифференцированных человеческих НСК в поврежденный мозг крысам после контролируемого кортикального повреждения головного мозга демонстрировали временное увеличение ангиогенеза и выживаемость нейронов в области поражения с уменьшением астроглиоза и объема поврежденной ткани головного мозга [59]. Более того, НСК, выделенные из головного мозга эмбрионов мышей и трансплантированные в мозг травмированных взрослых мышей, значительно улучшили моторные и когнитивные функции таких животных, поскольку эти клетки дифференцировались в нейроны и глиальные клетки, которые способствовали восстановлению поврежденных тканей [59].

В данный момент разработаны многочисленные протоколы выделения эмбриональных НСК и их направленной дифференциации с разной степенью успеха. Огромным недостатком использования таких клеток является этическая сторона их получения. Тот факт, что трансплантированные эмбриональные/фетальные НСК могут интегрироваться в нервную ткань реципиента, облегчает возможность использования их в клеточной терапии при травматических повреждениях нервной системы.

Нейральные стволовые клетки, полученные из взрослого организма. Наряду с эмбриональными и фетальными НСК в клеточной терапии ЧМТ используют нейральные стволовые клетки, изолированные из взрослого организма. Использование эмбриональных и фетальных СК в клеточной терапии осложняется многими техническими и этическими проблемами, риском образования опухолей и большей вероятностью иммунологического отторжения [63]. Для преодоления этих осложнений нейральные стволовые клетки, полученные из взрослого организма, считаются перспективным потенциальным источником терапии ЧМТ [64]. Такие клетки выделяют из субвентрикулярной зоны боковых желудочков взрослых организмов человека или животных. Они представляют собой унипотентные СК, имеют низкий потенциал самообновления и дифференцируются только в одну клеточную линию ткани, в которой они находятся. Таким образом, НСК взрослого организма могут дифференцироваться в клетки нервной ткани и, следовательно, их можно использовать в качестве возможного лечения последствий ЧМТ.

После трансплантации в поврежденный мозг крыс НСК взрослого организма демонстрировали хорошую выживаемость в течение длительного периода и дифференцировались в специфические клетки ткани реципиента. [65, 66]. Показано, что такие клетки мигрируют на небольшие расстояния от места введения, где они экспрессировали маркеры нейронов и глиальных клеток, таких как астроциты и олигодендроциты, что указывает на их способность

дифференцироваться как в нейроны, так и в глию [67]. Другое исследование показало, что НСК, выделенные из спинного мозга человека и трансплантированные в поврежденный спинной мозг взрослых крыс, дифференцировались в нейроны и интегрировались в нейронные сети реципиента [68].

Также исследовали терапевтический потенциал нейральных стволовых клеток для лечения диффузной патологии белого вещества после травматического повреждения мозга. Нейральные СК, изолированные из субвентрикулярной зоны взрослой мыши, были трансплантированы в боковой желудочек мозга мышей через две недели после ЧМТ. Было показано, что трансплантация СК значительно снижала реактивный глиоз в мозолистом теле мозга и, тем самым, уменьшала нейровоспаление [69].

Было проведено несколько клинических исследований, связанных с использованием НСК у людей, в частности, выделенные и очищенные НСК человека были трансплантированы пациентам с хроническими травмами спинного мозга [70]. Показано, что НСК интегрировались в нервную паренхиму и полученные результаты дают надежду на дальнейшее использование таких клеток в качестве клеточной терапии при травматических повреждениях нервной системы.

В настоящее время возникла необходимость использования СК с определенным типом дифференциации для лечения различных видов ЧМТ. Так, например, при диффузной ЧМТ, в отличие от фокальной ЧМТ, повреждаются аксоны, что приводит к их демиелинизации. Для такого вида повреждения, вероятней всего, потребуются применять комбинированную терапию СК, которые предварительно дифференцированы не только в нейроны, но и в олигодендроциты.

Индукцированные плюрипотентные стволовые клетки (иПСК).

Перепрограммирование дифференцированных соматических клеток в плюрипотентные СК может быть выполнено посредством эктопической экспрессии четырех факторов транскрипции: Oct4, Sox2, c-Мyc и Klf4 [71]. Полученные таким образом индуцированные плюрипотентные стволовые клетки могут самообновляться и дифференцироваться в различные типы клеток, аналогично эмбриональным НСК. Возможность использования иПСК открывает новые перспективы для клеточной терапии и имеет огромное преимущество: позволяет избежать использования эмбриональных СК по этическим соображениям и генерировать аутологичные клетки от самих пациентов и, таким образом, не вызывать какого-либо иммунологического отторжения при их трансплантации [47].

При трансплантации (иПСК) в поврежденный мозг крысам на модели контролируемого коркового повреждения было показано, что клетки выживают и способствуют улучшению когнитивных и двигательных характеристик. Однако полное когнитивное восстановление было зарегистрировано только при комплексном лечении усложненной средой проживания, в которой находились крысы, и трансплантацией иПСК [72].

Известен протокол генерации иПСК с помощью трансдукции неинтегрирующим вирусом Сендай фибробластов, выделенных из твердой оболочки мозга у 60-летнего пациента, страдающего серьезными когнитивными нарушениями [73]. Клетки твердой оболочки мозга можно легко выделять во время большинства нейрохирургических операций, что делает их эффективным источником для генерации иПСК. Было показано, что клоны иПСК экспрессируют некоторые маркеры СК, такие как Nanog, транскрипционные факторы Sox2 и Oct4 [73]. Таким образом, подобные иПСК являются потенциальными кандидатами на ауто трансплантацию, которые могут эффективно использоваться в клеточной терапии.

На модели поврежденного спинного мозга у взрослых крыс было показано, что трансплантированные иПСК человека выживали и дифференцировались в нейроны, астроциты и олигодендроциты, усиливали регенерацию аксонов и предотвращали их демиелинизацию, при этом не проявляли онкогенного эффекта. Трансплантированные иПСК не только способствовали регенерации,

но и проявляли иммуномодулирующие и нейропротекторные свойства для предотвращения дальнейшего повреждения тканей [74].

На данный момент технология использования iPСК имеет некоторые серьезные ограничения. Существует риск образования опухолей из-за использования вирусных векторов и низкая эффективность перепрограммирования при производстве этих клеток. Крайне важно тщательно исследовать безопасность использования iPСК в клинике, поскольку у индуцированных клеток неизвестен генетический и эпигенетический фон [75]. Необходимо дальнейшее систематическое исследование iPСК для применения этих клеток в клеточной терапии.

Мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки (ММСК).

ММСК – это мультипотентные стволовые клетки, которые можно выделить из костного мозга и других взрослых тканей [76]. ММСК характеризуются экспрессией различных поверхностных молекул, таких как CD105, CD73 и CD90 и отсутствием у них гемопоэтических маркеров, включая CD45, CD19 и CD34 [65, 77]. Их можно легко выделить из тканей грызунов и человека, культивировать и использовать в моделях *in vitro* и *in vivo*. ММСК обладают значительной пластичностью, высоким уровнем самообновления, пролиферации и дифференциации. Эти характеристики позволяют использовать ММСК в клеточной терапии для лечения широкого спектра заболеваний, включая неврологические травмы, такие как ЧМТ [76, 77]. Культивированные ММСК могут быть введены внутривенно или непосредственно в место повреждения, где они будут выделять ростовые факторы, тем самым восстанавливать поврежденные ткани и индуцировать ангиогенез [78]. При внутривенном введении было показано, что ММСК проникают через гематоэнцефалический барьер и продуцируют трофические факторы в мозге крыс после ЧМТ. Наиболее известными секретируемыми факторами ММСК являются BDNF, NGF, сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF) и глиальный нейротрофический фактор (GDNF) [79].

Благодаря высоким адгезивным характеристикам и способности дифференцироваться в разные клеточные линии, ММСК были предложены в качестве кандидатов для лечения ЧМТ. Действительно, клетки, экспрессирующие такие маркеры, как бета-тубулин III и GFAP, могут быть получены из ММСК, когда они культивируются с bFGF и hEGF. Показано, что при сокультивировании с астроцитами ММСК человека, выделенных из пуповины (hUC-MSCs), усиливалась пролиферация ММСК и повышалась эффективность их дифференциация в нейроны [80].

Было показано, что трансплантированные человеческие ММСК крысам после ЧМТ улучшали показатели неврологических функций на основе показателей теста ротород и оценки тяжести неврологических нарушений. В дополнение к этому, у животных улучшались показатели когнитивных функций, которые оценивались с помощью теста водного лабиринта Морриса [81].

В настоящее время терапия ММСК показала многообещающие эффекты при лечении многих заболеваний. В частности, экспериментальное исследование было проведено с использованием нейрональных стволовых клеток, полученных из аутологичных ММСК костного мозга у 10 пациентов с тяжелой формой ЧМТ. Была проведена I фаза клинического исследования с целью оценки безопасности, обоснованности и биологического эффекта внутривенной или интратекальной трансплантации клеток. В результате введения таких клеток не наблюдались признаки ухудшения неврологических функций у всех пациентов. Более того, в отдаленных периодах после трансплантации у 7 пациентов отмечалось улучшение неврологических функций по сравнению со значениями до трансплантации [82].

Благодаря сравнительной легкости получения мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток и их способности к дифференциации в определенный тип клеток нервной системы, ММСК являются наиболее перспективными кандидатами для лечения последствий ЧМТ стволовыми клетками

ВЫВОДЫ

Несмотря на увеличение количества исследований по диагностике, лечению и профилактике ЧМТ, основной вопрос остается без ответа: что является наиболее эффективным методом восстановления функции мозга после ЧМТ? Открытие СК и их обнаружение в мозге эмбрионов и взрослых организмов изменило наше понимание пластичности ЦНС, однако, учитывая их сложную генетическую изменчивость, окончательный ответ будет далек от простого.

Стволовые клетки являются хорошими кандидатами для лечения ЧМТ и, следовательно, надеждой для многих людей, переживших ЧМТ. Несмотря на ранние успехи в изучении СК, по-прежнему остается множество вопросов и проблем, требующих всесторонних исследований. Основными из них являются следующие: 1) способность СК вызывать развитие злокачественных опухолей при введении в организм реципиента; 2) способность СК к непредвиденной дифференцировке и трудности эффективной направленной дифференцировки; 3) иммунологическая несовместимость СК с реципиентом в случае их аллогенного применения.

Без адекватного решения проблем, связанных с биологией СК, эффективное использование этих клеток в клинической практике невозможно.

СПИСОК ЦИТИРУЕМЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Position statement: definition of traumatic brain injury / D. K. Menon, K. Schwab, D. W. Wright, et al. // Arch Phys Med Rehabil. – 2010. – Vol. 91, № 11. – P. 1637-40.
2. Classification of traumatic brain injury for targeted therapies / K. E. Saatman, A. C. Duhaime, R. Bullock, et al. // J Neurotrauma. – 2008. – Vol. 25, № 7. – P. 719-38.
3. Rostami E. Traumatic Brain Injury Models in Animals / E. Rostami // Methods Mol Biol. – 2016. – Vol. 1462. – P. 47-59.
4. The pathophysiology of traumatic brain injury at a glance / M. Prins, T. Greco, D. Alexander, et al. // Dis Model Mech. – 2013. – Vol. 6, № 6. – P. 1307-15.
5. Traumatic Brain Injury in the United States: Emergency Department Visits, Hospitalizations and Deaths / M. Faul, L. Xu, M. M. Wald, et al. // Atlanta, GA: Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Injury Prevention and Control. – 2010. – Режим доступу: https://www.cdc.gov/traumaticbraininjury/pdf/blue_book.pdf
6. Лехан В. М. Особливості епідеміології черепно-мозкової травми в Україні / В. М. Лехан, А. П. Гук // Україна. Здоров'я нації. – 2010. – Т. 2, № 14. – С. 7-14
7. Social and Epidemiological Aspects of Craniocerebral Trauma (review) / D. M. Ovsyannikov, A. A. Chekhonatsky, V. N. Kolesov, et al. // Saratov Journal of Medical

- Scientific Research – 2012. – **Vol. 8, № 3.** – P. 777-85.
8. *Agoston D. V.* Bench-to-Bedside and Bedside Back to the Bench; Seeking a Better Understanding of the Acute Pathophysiological Process in Severe Traumatic Brain Injury / *D. V. Agoston* // *Front Neurol.* – 2015. – **Vol. 6.** – P. 47.
 9. *Blyth B. J.* Traumatic alterations in consciousness: traumatic brain injury / *B. J. Blyth, J. J. Bazarian* // *Emerg Med Clin North Am.* – 2010. – **Vol. 28, № 3.** – P. 571-94.
 10. *Masel B. E.* Traumatic brain injury: a disease process, not an event / *B. E. Masel, D. S. DeWitt* // *J Neurotrauma.* – 2010. – **Vol. 27, № 8.** – P. 1529-40.
 11. *Werner C.* Pathophysiology of traumatic brain injury / *C. Werner, K. Engelhard* // *Br J Anaesth.* – 2007. – **Vol. 99, № 1.** – P. 4-9.
 12. *Xiong Y.* Animal models of traumatic brain injury / *Y. Xiong, A. Mahmood, M. Chopp* // *Nat Rev Neurosci.* – 2013. – **Vol. 14, № 2.** – P. 128-42.
 13. Patients with head injury who talk and die / *P. L. Reilly, D. I. Graham, J. H. Adams, et al.* // *Lancet 2.* – 1975. – **Vol. 7931.** – P. 375-7.
 14. *Algattas H.* Traumatic Brain Injury pathophysiology and treatments: early, intermediate, and late phases post-injury / *H. Algattas, J. H. Huang* // *Int J Mol Sci.* – 2014. – **Vol. 15, № 1.** – P. 309-41.
 15. Glucose metabolism following human traumatic brain injury: methods of assessment and pathophysiological findings / *I. Jalloh, K. L. Carpenter, A. Helmy, et al.* // *Metab Brain Dis.* – 2015. – **Vol. 30, № 3.** – P. 615-32.
 16. Disruptions in the regulation of extracellular glutamate by neurons and glia in the rat striatum two days after diffuse brain injury / *J. M. Hinzman, T. C. Thomas, J. E. Quintero, et al.* // *J Neurotrauma.* – 2012. – **Vol. 29, № 6.** – P. 1197-208.
 17. Mitochondrial dysfunction and calcium perturbation induced by traumatic brain injury / *Y. Xiong, Q. Gu, P. L. Peterson, et al.* // *J Neurotrauma.* – 1997. – **Vol. 14, № 1.** – P. 23-34.
 18. *Farkas O.* Cellular and subcellular change evoked by diffuse traumatic brain injury: a complex web of change extending far beyond focal damage / *O. Farkas, J. T. Povlishock* // *Prog Brain Res.* – 2007. – **Vol. 161.** – P. 43-59.
 19. Blood-brain barrier breakdown following traumatic brain injury: a possible role in posttraumatic epilepsy / *O. Tomkins, A. Feintuch, M. Benifla, et al.* // *Cardiovasc Psychiatry Neurol.* – 2011. – doi:10.1155/2011/765923.
 20. *Stoica B. A.* Cell death mechanisms and modulation in traumatic brain injury / *B. A. Stoica, A. I. Faden* // *Neurotherapeutics.* – 2010. – **Vol. 7, № 1.** – P. 3-12.
 21. *Corps K. N.* Inflammation and neuroprotection in traumatic brain injury / *K. N. Corps, T. L. Roth, D. B. McGavern* // *JAMA Neurol.* – 2015. – **Vol. 72, № 3.** – P. 355-62
 22. Physiology of microglia / *H. Kettenmann, U. K. Hanisch, M. Noda, et al.* // *Physiol Rev.* – 2011. – **Vol. 91, № 2.** – P. 461-553.
 23. Chronic gliosis and behavioral deficits in mice following repetitive mild traumatic brain injury / *R. Mannix, J. Berglass, J. Berkner, et al.* // – 2014. – **Vol. 12, № 6.** – P. 1342-50
 24. The microglia-activating potential of thrombin: the protease is not involved in the induction of proinflammatory cytokines and chemokines / *U. K. Hanisch, D. van Rossum, Y. Xie, et al.* // *J Biol Chem.* – 2004. – **Vol. 279, № 50.** – P. 51880-7.
 25. *Zabenko Y. Y.* Flavonoid quercetin reduces gliosis after repetitive mild traumatic brain injury in mice / *Y. Y. Zabenko, T. A. Pivneva* // *Fisiol Zh.* – 2016. – **Vol. 62, № 5.** – P. 50-6.
 26. *Wurzelmann M.* Therapeutic potential of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and a small molecular mimics of BDNF for traumatic brain injury / *M. Wurzelmann, J. Romeika, D. Sun* // *Neural Regen Res.* – 2017. – **Vol. 12, № 1.** – P. 7-12.
 27. *Loane D. J.* Microglia in the TBI brain: The good, the bad, and the dysregulated / *D. J. Loane, A. Kumar* // *Exp Neurol.* – 2016. – **Vol. 275, Pt 3.** – P. 316-27.
 28. *Ludice A.* Pharmacological prophylaxis of post-traumatic epilepsy / *A. Ludice, L. Murri* // *Drugs.* – 2000. – **Vol. 59, № 5.** – P. 1091-9.
 29. A fluid percussion model of experimental brain injury in the rat / *C. E. Dixon, B. G. Lyeth, J. T. Povlishock, et al.* // *J Neurosurg.* – 1987. – **Vol. 67, № 1.** – P. 110-9.
 30. *Finnie J. W.* Animal models. Traumatic brain injury / *J. W. Finnie, P. C. Blumbergs* // *Vet Pathol.* – 2002. – **Vol. 396.** – P. 679-689.
 31. Experimental models of traumatic brain injury: Do we really need to build a better mousetrap? / *D. M. Morales, N. Marklund, D. Lebold D, et al.* // *Neuroscience.* – 2005. – **Vol. 136, № 4.** – P. 971-89.
 32. *Zabenko Ye.* Behavioral reactions and structural alterations of hippocampal tissue after repetitive mild traumatic brain injury in mice / *Ye. Zabenko, T. Pivneva* // *Studia Universitatis Babeş – Bolyai, Biologia, Lix.* – 2014. – **Vol. 2.** – P. 63-71.
 33. A new model of diffuse brain injury in rats. Part I: Pathophysiology and biomechanics / *A. Marmarou, M. A. Foda, W. van den Brink, et al.* // *J Neurosurg.* – 1994. – **Vol. 80, № 2.** – P. 291-300.
 34. *Lighthall J. W.* Controlled cortical impact: a new experimental brain injury model / *J. W. Lighthall* // *J Neurotrauma.* – 1988. – **Vol. 5.** – P. 1-15.
 35. A controlled cortical impact model of traumatic brain injury in the rat / *C. E. Dixon, G. L. Clifton, J. W. Lighthall, et al.* // *J Neurosci Methods.* – 1991. – **Vol. 39, № 3.** – P. 253-62.
 36. Clinical trials in head injury / *R. K. Narayan, M. E. Michel, B. Ansell, et al.* // *J Neurotrauma.* – 2002. – **Vol. 19, № 5.** – P. 503-557.
 37. Voltage-gated calcium channel antagonists and traumatic brain injury / *G. Gurkoff, K. Shahlaie, B. Lyeth, et al.* // *Pharmaceuticals (Basel).* – 2013. – **Vol. 6, № 7.** – P. 788-812.
 38. *Hall E. D.* Antioxidant therapies for traumatic brain injury / *E. D. Hall, R. A. Vaishnav, A. G. Mustafa* // *Neurotherapeutics.* – 2010. – **Vol. 7, № 1.** – P. 51-61.
 39. *Gudeman S. K.* Failure of high-dose steroid therapy to influence intracranial pressure in patients with severe head injury / *S. K. Gudeman, J. D. Miller, D. P. Becker* // *J Neurosurg.* – 1979. – **Vol. 51, № 3.** – P. 301-306.
 40. Failure of the competitive N-Methyl-D-aspartate antagonist Selfotel (CGS 19755) in the treatment of severe head injury: results of two phase III clinical trials. The Selfotel Investigators / *G. F. Morris, R. Bullock, S. B. Marshall, et al.* // *J Neurosurg.* – 1999. – **Vol. 91, № 5.** – P. 737-43.
 41. Stem cells for therapy in TBI / *A. I. Ahmed, S. Gajavelli, M. S. Spurlock, et al.* // *J R Army Med Corps.* – 2016. – **Vol. 162, № 2.** – P. 98-102.
 42. Isolation of multipotent neural precursors residing in the cortex of the adult human brain / *Y. Arsenijevic, J. G. Villemure, J. F. Brunet, et al.* // *Exp Neurol.* – 2001. – **Vol. 170, № 1.** – P. 48-62.
 43. Cameron H. A. Restoring production of hippocampal neurons in old age / *H. A. Cameron, R. D. McKay* // *Nat Neurosci.* – 1999. – **Vol. 2, № 10.** – P. 894-97.
 44. *Sun D.* The potential of endogenous neurogenesis for brain repair and regeneration following traumatic brain injury / *D. Sun* // *Neural Regeneration Research.* – 2014. – **Vol. 9, № 7.** – P. 688-92.

45. Functional neurogenesis in the adult hippocampus / *H. van Praag, A. F. Schinder, B. R. Christie* // Nature. – 2002. – **Vol. 415, № 6875**. – P. 1030-34.
46. Endogenous neural stem/progenitor cells stabilize the cortical microenvironment after traumatic brain injury / *K. J. Dixon, M. H. Theus, C. M. Nellersa, et al.* // J Neurotrauma. – 2015. – **Vol. 32, № 11**. – P. 753-64.
47. *Rolle A. Stem Cell Therapy in Brain Trauma: Implications for Repair and Regeneration of Injured Brain in Experimental TBI Models / A. Rolfe, D. Sun.* – CRC Press: Taylor & Francis (c), 2015. – 200 p.
48. Neurogenesis in adult human brain after traumatic brain injury / *W. Zheng, Q. ZhuGe, M. Zhong, et al.* // J Neurotrauma. – 2013. – **Vol. 30, № 22**. – P. 1872-80.
49. The effect of epidermal growth factor in the injured brain after trauma in rats / *D. Sun, M. R. Bullock, N. Altememi, et al.* // J Neurotrauma. – 2010. – **Vol. 27, № 5**. – P. 923-38.
50. Single-cell transcriptomics reveals a population of dormant neural stem cells that become activated upon brain injury / *E. Llorens-Bobadilla, S. Zhao, A. Baser, et al.* // Cell Stem Cell – 2015. – **Vol. 17, № 3**. – P. 329-40.
51. Neural stem cells in the immature, but not the mature, subventricular zone respond robustly to traumatic brain injury / *M. T. Goodus, A. M. Guzman, F. Calderon, et al.* // Dev Neurosci. – 2015. – **Vol. 37, № 1**. – P. 29-42.
52. Emerging concepts in neural stem cell research: autologous repair and cell-based disease modelling / *P. Koch, Z. Kokaia, O. Lindvall, et al.* // Lancet Neurol. – 2009. – **Vol. 8, № 9**. – P. 819-29.
53. *van Praag H. Running increases cell proliferation and neurogenesis in the adult mouse dentate gyrus / H. van Praag, G. Kempermann, F. H. Gage* // Nat Neurosci. – 1999. – **Vol. 2, № 3**. – P. 266-70.
54. Activating endogenous neural precursor cells using metformin leads to neural repair and functional recovery in a model of childhood brain injury / *P. Dadwal, N. Mahmud, L. Sinai, et al.* // Stem Cell Reports. – 2015. – **Vol. 5, № 2**. – P. 166-73.
55. *Цымбалюк В. И. Нейрогенные стволовые клетки / В. И. Цымбалюк, В. В. Медведев* – Киев: Коваль, 2005. – 596 с.
56. Systemic injection of neural stem/progenitor cells in mice with chronic EAE / *M. Donega, E. Giusto, C. Cossetti, et al.* // J Vis Exp. – 2014. – **Vol. 86**. – P. 51154.
57. Long-term fate of grafted hippocampal neural progenitor cells following ischemic injury / *O. Tsuprykov, V. Kyryk, E. Smozhanik, et al.* // J Neurosci Res. – 2014. – **Vol. 92, № 8**. – P. 964-74.
58. *Gage F. H. Stem cells of the central nervous system / F. H. Gage* // Curr Opin Neurobiol. – 1998. – **Vol. 18, № 5**. – P. 671-76.
59. Long-term benefit of human fetal neuronal progenitor cell transplantation in a clinically adapted model after traumatic brain injury / *M. Skardelly, K. Gaber, S. Burdack, et al.* // J Neurotrauma. – 2011. – **Vol. 28, № 3**. – P. 401-14.
60. Proliferation, migration, and differentiation of human neural stem/progenitor cells after transplantation into a rat model of traumatic brain injury / *A. Wennersten, X. Meier, S. Holmin, et al.* // J Neurosurg. – 2004. – **Vol. 100, № 1**. – P. 88-96.
61. *Hentze H. Cell therapy and the safety of embryonic stem cell-derived grafts / H. Hentze, R. Graichen, A. Colman* // Trends Biotechnol. – 2007. – **Vol. 25, № 1**. – P. 24-32.
62. *Baraniak P. R. Stem cell paracrine actions and tissue regeneration / P. R. Baraniak, T. C. McDevitt* // Regen Med. – 2010. – **Vol. 5** – P. 121-43.
63. Grafted neural progenitors migrate and form neurons after experimental traumatic brain injury / *U. Wallenquist, K. Brannvall, A. Clausen, et al.* // Restor Neurol Neurosci – 2009. – **Vol. 27, № 4**. – P. 323-34.
64. Intravenous transplants of human adipose-derived stem cell protect the brain from traumatic brain injury-induced neurodegeneration and motor and cognitive impairments: cell graft biodistribution and soluble factors in young and aged rats / *N. Tajiri, S. A. Acosta, M. Shahaduzzaman, et al.* // J Neurosci. – 2014. – **Vol. 34, № 1**. – P. 313-26.
65. Progenitor cell therapies for traumatic brain injury: barriers and opportunities in translation / *P. A. Walker, S. K. Shah, M. T. Hurting, et al.* // Dis Model Mech. – 2009. – **Vol. 2, № 1-2**. – P. 23-38.
66. Sustained survival and maturation of adult neural stem/progenitor cells after transplantation into the injured brain / *D. Sun, M. Gugliotta, A. Rolfe, et al.* // J Neurotrauma. – 2011. – **Vol. 28, № 6**. – P. 961-72.
67. *Barkho B. Z. Adult neural stem cells: response to stroke injury and potential for therapeutic applications / B. Z. Barkho, X. Zhao* // Curr Stem Cell Res Ther. – 2011. – **Vol. 6, № 4**. – P. 327-38.
68. *Yan J. Extensive neuronal differentiation of human neural stem cell grafts in adult rat spinal cord / J. Yan, L. Xu, A. M. Welsh, et al.* // PLoS Med. – 2007. – **Vol. 4, № 2**. – P. 39.
69. *Sullivan G. M. Transplanted adult neural stem cells express sonic hedgehog in vivo and suppress white matter neuroinflammation after experimental traumatic brain injury / G. M. Sullivan, R. C. Armstrong* // Stem Cells Int. – 2017. – doi: 10.1155/2017/9342534.
70. *Trounson A. Stem cell therapies in clinical trials: progress and challenges / A. Trounson, C. McDonald* // Cell stem cell. – 2015. – **Vol. 17, № 1**. – P. 11-22.
71. *Takahashi K. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors / K. Takahashi, S. Yamanaka* // Cell. – 2006. – **Vol. 126, № 4**. – P. 663-76.
72. Combining enriched environment and induced pluripotent stem cell therapy results in improved cognitive and motor function following traumatic brain injury / *J. Dunkerson, K. E. Moritz, J. Young, et al.* // Restor Neurol Neurosci. – 2014. – **Vol. 32, № 5**. – P. 675-87.
73. Efficient Generation of Induced Pluripotent Stem and Neural Progenitor Cells from Acutely Harvested Dura Mater Obtained During Ventriculoperitoneal Shunt Surgery / *W. A. Cary, C. N. Hori, M. T. Pham, et al.* // World Neurosurg. – 2015. – **Vol. 84, № 5**. – P. 1256-1266.
74. Pre-evaluated safe human iPSC-derived neural stem cells promote functional recovery after spinal cord injury in common marmoset without tumorigenicity / *Y. Kobayashi, Y. Okada, G. Itakura, et al.* // PLoS One. – 2012. – **Vol. 7, № 12**. – P. e52787.
75. *Yamanaka S. Nuclear reprogramming to a pluripotent state by three approaches / S. Yamanaka, H. M. Blau* // Nature. – 2010. – **Vol. 465, № 7299**. – P. 704-12.
76. Hypoxic preconditioning enhances the therapeutic potential of the secretome from cultured human mesenchymal stem cells in experimental traumatic brain injury / *C. P. Chang, C. C. Chio, C. U. Cheong, et al.* // Clin Sci (Lond). – 2013. – **Vol. 124, № 3**. – P. 165-76.
77. *Nardi N. B. Mesenchymal stem cells: isolation, in vitro expansion and characterization / N. B. Nardi, da Silva Meirelles L.* // Handb Exp Pharmacol. – 2006. – **Vol. 174**. – P. 249-82.
78. Effects of intravenous administration of allogenic bone marrow and adipose tissue-derived mesenchymal stem cells on functional recovery and brain repair markers in experimental ischemic stroke / *M. Gutierrez-Fernandez, B. Rodriguez-Frutos, J. Ramos-Cejudo, et al.* // Stem Cell Res Ther. – 2013. – **Vol. 4, № 1**. – P. 11.

79. *Mahmood A.* Intravenous administration of marrow stromal cells (MSCs) increases the expression of growth factors in rat brain after traumatic brain injury / *A. Mahmood, D. Lu, M. Chopp* // *J Neurotrauma*. – 2004. – **Vol. 21, № 1** – P. 33-9.
80. Transplantation of RADA16-BDNF peptide scaffold with human umbilical cord mesenchymal stem cells forced with CXCR4 and activated astrocytes for repair of traumatic brain injury / *W. Shi, C. J. Huang, X. D. Xu, et al.* // *Acta Biomaterialia* – 2016. – **Vol. 45**. – P. 247-261.
81. Treatment of traumatic brain injury in adult rats with intravenous administration of human bone marrow stromal cells / *A. Mahmood, D. Lu, M. Lu, et al.* // *Neurosurgery*. – 2003. – **Vol. 53, № 3**. – P. 697-703.
82. Safety of neural stem cell transplantation in patients with severe traumatic brain injury / *Z. Wang, Y. Luo, L. Chen, et al.* // *Exp Ther Med*. – 2017. – **Vol. 13, № 6**. – P. 3613-18.



СТАТТЯ НА САЙТІ
TRANSPLANTOLOGY.ORG

Автори підтверджують відсутність можливих конфліктів інтересів.

Поступила в редакцію 10.05.2017 г.

Прийнята к печати 30.11.2017 г.